

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie
Studijní obor Analytická chemie

**Prekoncentrace a stanovení perfluorovaných
organických kyselin metodou plynové
chromatografie**

**Preconcentration and determination of
perfluorinated organic acids by gas
chromatography**

Rigorózní práce

Praha 2010

Doubravka Maradová

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto rigorózní práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Radomíra Čabaly, Ph.D., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 5. 7. 2010

1. Úvod

Tématem mé rigorózní práce je výzkum prekoncentrační problematiky perfluorovaných organických kyselin. V práci jsem plynule navázala na výsledky získané během měření a vypracování diplomové práce.

Cílem diplomové práce bylo vyvinutí účinné prekoncentrační metody pro stanovení perfluorovaných organických kyselin ve vodě metodou plynové chromatografie.

Cílem rigorózní práce je porovnání, která ze dvou analytických separačních metod při použití stejných derivatizačních technik je citlivější a která z analytických metod nehledě na použitém typu derivatizace je pro analýzu PFA nejcitlivější.

2. Teoretická část

2.1 Perfluorované sloučeniny

Perfluorované sloučeniny (PFS) jsou perzistentní organické látky, u kterých jsou všechny vodíky v alkylovém řetězci nahrazeny atomy fluoru. Mezi často analyzované PFS patří například perfluorhexanová kyselina (PFHxA), perfluorheptanová kyselina (PFHpA), perfluoroktanová kyselina (PFOA), dále pak perfluoroktansulfonát (PFOS) a perfluoroktansulfonamid (PFOSA), (viz. tabulka č.1). Do skupiny perfluorovaných sloučenin bývají někdy také řazeny telomerní polyfluorované látky, což jsou lineární, polyfluorované sloučeniny, kde perfluorovaná část alkylového řetězce s 6 a více uhlíky je zakončena ethylenovou částí s navázanou funkční skupinou, např. fluorotelomerní alkoholy s obecným vzorcem ($C_xF_{2x+1}CH_2CH_2OH$).

Tabulka č. 1 – Fyzikální a chemické vlastnosti některých perfluorovaných sloučenin.

Název sloučeniny	Zkratka	Molekulový vzorec	Molekulová hmotnost	Bod varu (°C)	Bod tání (°C)	Hustota (g/cm ³)
Perfluorohexanová kyselina	PFHxA	C ₆ F ₁₁ COOH	314,068	157	-	1,762
Perfluoroheptanová kyselina	PFHpA	C ₇ F ₁₃ COOH	364,078	175	-	1,792
Perfluorooktanová kyselina	PFOA	C ₈ F ₁₅ COOH	414,088	192	53-60	1,700
Perfluorononanová kyselina	PFNA	C ₉ F ₁₇ COOH	464,098	218	69-74	-
Perfluorodekanová kyselina	PFDA	C ₁₀ F ₁₉ COOH	514,108	218	77-83	-
Perfluorotetradekanová kyselina	PFTDA	C ₁₄ F ₂₇ COOH	714,148	270	131-137	-
Perfluorobutansulfonát	PFBS	C ₄ F ₉ SO ₃ ⁻	299,100	-	-	-
Perfluorooktansulfonát	PFOS	C ₈ F ₁₇ SO ₃ ⁻	499,140	-	-	-
Perfluorooktansulfonamid	PFOSA	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ₂	499,166	-	-	-

Vedle polychlorovaných a polybromovaných látek, kterým byla až do dnešní doby věnována obrovská pozornost, se jedná o další skupinu halogenovaných kontaminantů, která vykazuje negativní účinky na životní prostředí [1]. PFS jsou bioakumulativní a potenciálně škodlivé syntetické chemikálie, přirozeně se nevyskytující v životním prostředí.

Typická struktura PFS má lineární řetězec se 4 až 13 atomy uhlíku:

$F - (CF_2)_n - X$, $n = 4 - 13$, kde $X = -CH_2-CH_2-OH, -COOH, -SO_3H, -SO_2NH_2$ [2].

Vazba fluor-uhlík je nejsilnější jednoduchou vazbou prvku s uhlíkem, ovšem její síla je závislá na aktuální struktuře molekuly. Vzhledem k vysoké energii vazby jsou téměř všechny z organických fluorovaných sloučenin odolné vůči hydrolyze, fotolýze, biodegradaci a procesům v metabolismu [1, 3, 4].

PFS, nejčastěji ve formě alkylsulfonamidů a amidů, jsou využívány v mnoha průmyslových oblastech (např. v textilním průmyslu, papírenství, nebo v zemědělství). Dále se používají jako změkčovadla, v mazacích olejích, nátěrových hmotách, leštidlech a jako složky protipožárních pěn. Speciální hasící pěny obsahují některé perfluorované látky (konkrétně soli perfluoralkansulfonových kyselin), které podporují tvorbu vodní pěny (aqueous film forming foam, AFFF). PFOA se používá jako pomocné činidlo při výrobě polytetrafluorethylenu (PTFE) známého spíše pod názvem Teflon [1, 5, 6]. PTFE je dále součástí různých laboratorních pomůcek, (jako jsou např. SPE kolonky) a dalších fluoropolymerů. Perfluoroktanová kyselina může být přítomna ve stopových množstvích v těchto produktech a lze ji detekovat v běžných rozpouštědlech užívaných v HPLC [7]. Amonná sůl perfluoroktanové kyseliny (APFOA) se používá jako emulgátor při produkci fluoropolymerů a fluoroelastomerů, jako je např. polytetrafluorethylen (PTFE) a polyvinylidenfluorid (PVDF). Tyto materiály jsou potřebné v automobilovém, leteckém a elektronickém průmyslu [10-13].

Deriváty PFOS a perfluorovaných kyselin (PFA) jsou používány na ochranu koberců, textilií, oděvů, nábytku, čalounění a výrobků z kůže proti znečištění. Tyto látky (tzv. „supersurfactants“) jsou schopné modifikovat vlastnosti povrchů těchto materiálů a poskytovat jim odolnost proti špíně, olejovitým látkám a vodě.

V zemědělství se využívá *N*-ethylperfluoroktansulfonamid, který patří mezi specifické insekticidy používané proti mravencům a termitům. Jeho metabolitem je bioakumulativní perfluoroktansulfonamid (PFOSA) [12].

Detailní teorie perfluorovaných sloučenin, jejich použití a stanovení, stejně tak přehled použitých analytických technik je publikována v Diplomové práci (DP) [13].

3. Experimentální část

3.1 Přístrojové vybavení

Téměř všechny analýzy jsem provedla na plynovém chromatografu PU 4600, (Unicam Analytical Systems, York Street, Cambridge, CB 12PX, Velká Británie) s detektorem elektronového záchyty (ECD). Nosným plynem byl dusík (5.0 Linde Technoplyn). Většina měření byla uskutečněna na nízko polární koloně SPB-5 Supelco délky 15 m a vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmu 0,25 μm . Pro srovnání separace na různých polárních stacionárních fázích byly použity tyto kolony: SPB-1 (Supelco, 30 m, 0,25 ID, film 0,25 μm , 100 % dimethylpolysiloxan), SPB-20 (Supelco, 15 m, 0,25 ID, film 1 μm , 20 % difenyl, 80 % dimethylpolysiloxan), SPB-35 (Supelco, 30 m, 0,25 ID, film 1 μm , 35 % difenyl, 65%), ZB-1701 (Phenomenex, Torrance, USA, 15 m, 0,25 ID, film 0,25 μm , 14 % kyanopropylfenyl, 86 % dimethylpolysiloxan), Supelcowax 10 (Supelco, 30 m, 0,25 ID, film 0,25 μm , polyetylglykol) a SP-2340 (Supelco, 60 m, 0,25 ID, 0,2 μm , 100 % kyanopropylsiloxan. K zakoncentrování vzorků bylo použito 100 μm polydimethylsiloxanové vlákno (PDMS, Supelco, Bellefonte, USA). Sběr dat a zpracování výsledků bylo provedeno v programu CSW 1.3. (DataApex s.r.o., Jinonice, Česká Republika). Dále bylo měřeno na plynovém chromatografu s hmotnostním detektorem GCMS-GP5050A, (Shimadzu, Analytical and Measuring Instruments Division, Kyoto, Japonsko) s kolonou SPB-5 Supelco délky 15 m o vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmu 0,25 μm a kolonou SPB-35 délky 30 m, vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmu 1 μm . K dispozici byl hmotnostní detektor s EI ionizací (energie 70 eV) a liner pro SPME (ID 1 mm). Ke sběru dat a zpracování výsledků byl použit program LabSolution (GCMSsolution 1.0, Shimadzu). K měření byl také použit vysokoúčinný kapalinový chromatograf s hmotnostním detektorem (Bruker Daltonics, Esquire 3000) s kolonou Prontosil o délce 200 mm, vnitřním průměru 2,0 mm a zrnění 3,0 μm . Zpracování výsledků bylo provedeno v programu Bruker Daltonics DataAnalysis 3.3. Při derivatizaci byly vzorky vytřepávány na třepačce (Vortexgenie 2, Scientific Industrie, Hampshire, Velká Británie) a promíchávány v ultrazvukové lázni (Sonorex RK 100, Bandelin, Barlen, Německo). Při optimalizaci byly vzorky zahřívány na digitálním termostatu (SBH130DC, Stuart, Barloworld Scientific, Staffordshire, Velká Británie). K zakoncentrování reálných vzorků byla použita rotační odparka (Rotavapor EL 130,

Büchi, Flawil, Švýcarsko). K pipetování vzorků sloužily automatické pipety 1-5 ml, 100-1000 μl a 10-100 μl (všechny Biohit, Helsinky, Finsko), 50-250 μl (Eppendorf, Hamburg, Německo) a 5-4 μl (Labsystems, Helsinky, Finsko). K dávkování do plynového chromatografu byla použita 5 μl stříkačka a plynotěsná 10 μl stříkačka (obě Hamilton, Reno, USA).

3.2. Derivatizace

Ke stanovení PFS jsem použila tři derivatizačních metod, derivatizaci perfluorovaných kyselin na isobutylestery, derivatizaci perfluorovaných kyselin tepelným rozkladem iontového páru po iontově-párové SPME a derivatizaci perfluorovaných kyselin methanolem po extrakci methyl(terc)butyl éterem.

Při derivatizaci PFA na isobutylestery bylo reakční médium připraveno o tomto složení: 20 μl roztoku příslušné kyseliny v acetonitrilu bylo smíšeno s 168 μl čistého acetonitrilu, 8 μl isobutylalkoholu, 4 μl pyridinu a 10 μl chlormravenčanu isobutylnatého jako reakčního činidla. Směs byla míchána 20 s v ultrazvukové lázni a poté nechána v klidu po dobu 8 minut. S přídávkem 200 μl hexanu byla celá směs 1 minutu třepána na třepačce, nakonec byla odebrána horní hexanová fáze do čisté vialky.

Pro iontově párovou extrakci PFA bylo použito PDMS vlákno. Aby bylo vlákno čisté a připravené pro analýzu, musela být nejprve provedena jeho kondicionace zahřátím na teplotu 250°C po dobu 60-ti minut. 4 ml připraveného roztoku PFA ve vodě o koncentraci 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ byly smíšeny se 100 μl 0,5M tetrabutylamonium bromidu jako extrakčního činidla. Vlákno bylo celé ponořeno do této směsi a extrakce proběhla za stálého míchání magnetickým míchadlem při laboratorní teplotě po dobu 30-ti minut.

Další derivatizace pro použití PDMS vlákna byla provedena následujícím způsobem. Do polypropylenových mikrozkušavek typu Eppendorf bylo dávkováno 100 μl vodného roztoku příslušné kyseliny o koncentracích 0,5, 1 a 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, přidáno 25 μl 50 % kyseliny sírové a 600 μl MTBE. Vzniklý roztok byl míchán na třepačce po dobu 1 minuty. Poté byla do skleněné vialky odebrána horní éterová fáze, která byla ihned odpařena proudem dusíku do sucha. K odparku bylo přidáno přibližně 0,16 g bezvodého síranu sodného, 10 μl methanolu a 30 μl koncentrované kyseliny sírové. Vialka s připravenou směsí byla následně plynotěsně uzavřena a zahřívána na teplotu 80 °C po dobu 20 minut. Po

ochlazení na laboratorní teplotu probíhala 10 minut adsorpce methylesteru PFA do vlákna.

Reálné vzorky byly přefiltrovány přes nylonový membránový filtr a 100krát zakoncentrovány. K zakoncentrovanému vzorku bylo přidáno 17 μ l koncentrované kyseliny fosforečné k dosažení koncentrace 50 mmol/l. Přídavkem 2M roztoku NaOH bylo upraveno pH na hodnotu 2,5 a vzorek byl poté zcentrifugován. 181 μ l takto připraveného vzorku bylo zderivatizováno postupem popsáním v této kapitole, odst. č. 2. [14].

3.3 Analýzy

Zderivatizované PFA jsem dále analyzovala na GC-ECD a GC-MS, bez derivatizační úpravy také na HPLC-MS.

Na plynovém chromatografu PU 4600 s detektorem elektronového záchytu byly analyzovány standardy isobutylesterů perfluorovaných kyselin a vzorky PFA po iontové párové extrakci. Měření byla provedena na koloně SPB-5, u níž jsem experimentálně potvrdila výraznou, rychlou a účinnou separaci píků isobutylesterů perfluorovaných kyselin. Stejná kolona byla také použita pro analýzu PFA po derivatizaci methanolem a extrakcí metyl(terc)butyl éterem.

Isobutylestery byly po derivatizacích proměřeny i na plynovém chromatografu s hmotnostním detektorem na koloně SPB-30. Měření bylo provedeno v SIM módu pro hmoty m/z 69, 169 a 519 odpovídající fragmentům CF_3 a C_3F_7 .

Zásobní roztoky PFA v acetonitrilu byly naředěny vodou na různé koncentrace a bez jakékoli derivatizační úpravy stanoveny na HPLC-MS s negativní chemickou ionizací v ESI módu při m/z 413. Byla použita kolona Prontosil. Mobilní fází byl acetonitril, voda a octan amonný o pH 3,6 v poměru 55 : 15 : 30.

Všechny provedené analýzy jsou detailně popsány v DP [13].

4. Výsledky a diskuze

4.1 Stručný výtah výsledků z Diplomové práce

Tabulka č.2 – Přehled použitých derivatizačních technik u vybraných analytických metod.

Analytická metoda	Derivatizační technika	Derivatizační technika	Derivatizační technika	Derivatizační technika
GC-ECD	-	Derivatizace na isobutylestery	Derivatizace tepelným rozkladem iontového páru	Derivatizace methanolem a extrakce MTBE
GC-MS	-	Derivatizace na isobutylestery	-	-
HPLC-MS	Bez derivatizační úpravy	-	-	-

Cílem DP bylo vyvinutí účinné prekoncentrační metody pro stanovení perfluorovaných organických kyselin ve vodě metodou plynové chromatografie.

Nejprve byla vybrána nejvhodnější kolona pro separaci PFA, a to kapilární kolona SPB-5.

Dále bylo přistoupeno k prekoncentraci vzorků. Po zjištění nižší citlivosti derivatizace PFA na isobutylestery a derivatizace tepelným rozkladem iontového páru byla vypracována a optimalizována derivatizace perfluorovaných kyselin ($C_6 - C_{12}$) methanolem po extrakci methyl(terc)butyl éterem metodou GC-ECD. Tato prekoncentrační metoda byla dostatečně citlivá (LOD a LOQ v desetinách $\mu\text{g/ml}$) a mohla být dále použita pro prekoncentraci reálného vzorku vody.

4.2 Nově naměřené výsledky

Tabulka č.3 – Přehled použitých derivatizačních technik u vybraných analytických metod.

Analytická metoda	Derivatizační technika	Derivatizační technika	Derivatizační technika	Derivatizační technika
GC-ECD	-	Derivatizace na isobutylestery	Derivatizace tepelným rozkladem iontového páru	Derivatizace methanolem a extrakce MTBE
GC-MS	-	Derivatizace na isobutylestery	-	Derivatizace methanolem a extrakce MTBE
HPLC-MS	Bez derivatizační úpravy	-	--	-

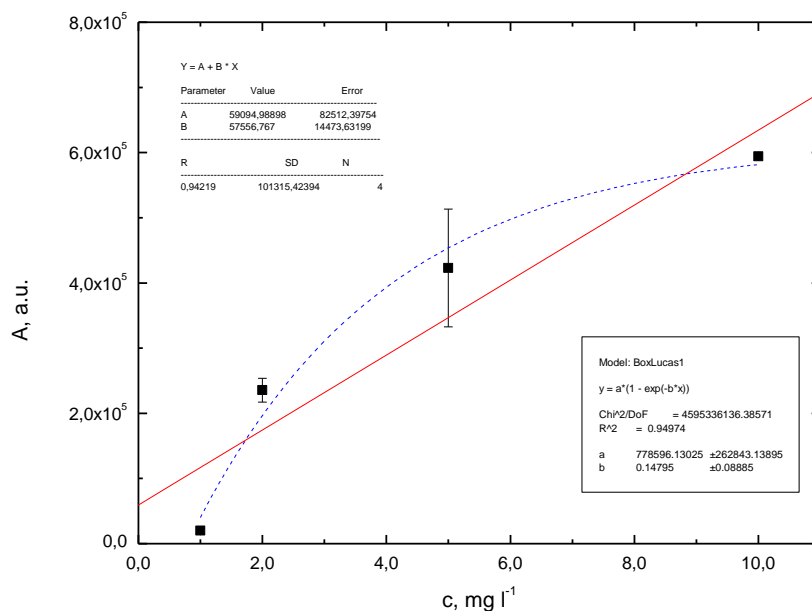
4.2.1 Srovnání limitů stanovitelnosti a detekce methylesterů PFA GC-ECD a GC-MS

Z DP vyplývá, že se podařilo vyvinout poměrně citlivou derivatizační techniku pro stanovení PFA a to derivatizací methanolem po extrakci metyl(terc)butyl éterem.

Abychom zjistili zda je při využití této derivatizační techniky výhodnější stanovení GC-ECD nebo GC-MS bylo potřeba proměřit kalibrační řadu na GC-MS.

GC-MS

Kalibrační řada obsahovala vzorky jednotlivých PFA o koncentraci 1, 2, 5 a 10 $\mu\text{g/ml}$ extrahovaných methyl(terc)butyl éterem metodou uvedenou v DP (kap. 3.4.3). Ze získaných údajů byly vyneseny kalibrační závislosti pro výpočet linearity, meze stanovitelnosti a detekce. Zde je uvedena jako příklad kalibrační závislost methylesteru PFHxA (obr. č. 1). Ostatní kalibrační závislosti všech methylesterů jsou uvedeny v příloze (obr. č. 3 až 8). Měření bylo provedeno ve splitless módu (GC-MS-SIM). Teplota injektoru 250 °C, teplota MS interface 250 °C. Teplotní program od 40 °C (2 min), 10 °C/min do 200 °C (10 min).

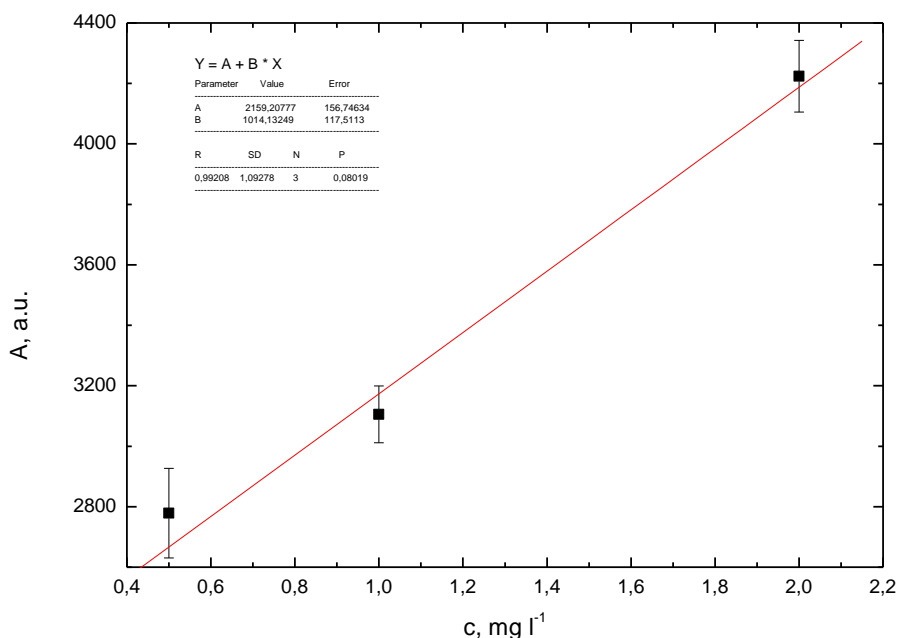


Obrázek č. 1 – Kalibrační závislost plochy píku methylesteru kyseliny perfluorhexanové ve splitless módu (GC-MS-SIM). Teplota injektoru 250 °C, teplota MS interface 250 °C. Teplotní program od 40 °C (2 min), 10 °C/min do 200 °C (10 min).

Kalibrační závislost plochy píku metylesteru kyseliny perfluorhexanové (GC-MS), viz. obr. č. 1, byla proložena lineární funkcí i když je z tohoto obrázku patrné že by bylo výhodnější proložení exponenciálou. U hmotnostní detekce s elektronovou ionizací se v některých případech projevila nízká ionizační účinnost PFA čímž došlo k zakřivení funkce. GC-MS-EI není tedy nejvhodnější metodou, ale v daném časovém rozpětí byla jedinou, která se dala použít. Je to převážně způsobeno chemickými ději, ke kterým dochází v GC-MS: ionizaci, separaci a detekci.

GC-ECD

Byly proměřeny vzorky PFOA o koncentracích 0,5, 1 a 2 $\mu\text{g/ml}$ (kalibrační řada viz. obr. č. 2). Měření bylo provedeno při teplotě detektoru 300 $^{\circ}\text{C}$, teplotě injektoru 300 $^{\circ}\text{C}$, teplotním programem: 40 $^{\circ}\text{C}$ (3 min, 2 min splittles), 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 70 $^{\circ}\text{C}$ (0 min), 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 220 $^{\circ}\text{C}$ (3 min).



Obr. č. 2 – Kalibrační závislost plochy píku methylesteru kyseliny perfluoroktanové, (GC-ECD), teplota detektoru 300 $^{\circ}\text{C}$, teplota injektoru 300 $^{\circ}\text{C}$, teplotní program: 40 $^{\circ}\text{C}$ (3 min, 2 min splittles), 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 70 $^{\circ}\text{C}$ (0 min), 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 220 $^{\circ}\text{C}$ (3 min).

Tabulka č. 4 – Detekční limity a limity stanovitelnosti methylesterů perfluorovaných kyselin ve splitless módu GC-MS vypočtené z lineární funkce v porovnání s detekčními limity a limity stanovitelnosti PFOA GC-ECD vypočtené taktéž z lineární funkce.

	<i>GC-MS</i> <i>LOD (µg/ml)</i>	<i>GC-MS</i> <i>LOQ (µg/ml)</i>	<i>GC-ECD</i> <i>LOD (µg/ml)</i>	<i>GC-ECD</i> <i>LOQ (µg/ml)</i>
PFHxA	4,3	16,6		
PFHpA	4,7	18,8		
PFOA	1,4	19,3	0,07	0,08
PFNA	1,7	5,9		
PFDA	2,5	10,3		
PFUnA	4,8	14,7		
PFDoA	4,8	13,9		

V tabulce jsou uvedeny meze detekce a stanovitelnosti pro jednotlivé methylestery PFA změřené GC-MS. Nejnižší mez detekce mají PFNA a PFOA, naopak nejvyšší PFUnA a PFDoA. Mez stanovitelnosti je taktéž nejmenší u PFNA, nejvyšší u PFOA. Celkově se hodnoty detekce a stanovitelnosti pohybují v jednotkách až desítkách µg/ml.

Srovnáním dvou metod GC-ECD a GC-MS použitím stejné derivatizační techniky můžeme říct, že pro analýzu a stanovení PFA se jako citlivější a tedy i vhodnější metoda jeví GC-ECD. Hodnoty detekce a stanovitelnosti se u methylesteru PFOA GC-ECD pohybovaly v desetínách µg/ml na rozdíl od GC-MS kde tyto hodnoty byly v řádech jednotek až desítek µg/ml.

4.2.2 Srovnání limitů stanovitelnosti a detekce methylesterů a isobutylesterů PFA GC-MS

Byla porovnána citlivost dvou derivatizačních metod a určeny LOD a LOQ isobutylesterů PFA po derivatizaci chlormravenčanem isobutylatým (DP, 3.4.1), v

koncentračním rozmezí 0,8 - 500 µg/ml a methylesterů PFA po extrakci methyl(terc)butyl éterem (DP, 3.4.3) v koncentračním rozmezí 1 - 10 µg/ml, obojí GC-MS.

Tabulka č. 5 – Detekční limity a limity stanovitelnosti methylesterů perfluorovaných kyselin ve splitless módu GC-MS vypočtené z lineární funkce v porovnání s detekčními limity a limity stanovitelnosti isobutylesterů perfluorovaných kyselin ve splitless módu GC-MS vypočtené taktéž z lineární funkce.

	<i>Isobutylestery PFA</i>		<i>Methylestery PFA</i>	
	LOD (µg/ml)	LOQ (µg/ml)	LOD (µg/ml)	LOQ (µg/ml)
PFHxA	15,0	51,0	4,3	16,6
PFHpA	9,4	9,4	4,7	18,8
PFOA	8,0	8,01	1,4	19,3
PFNA	-	-	1,7	5,9
PFDA	1,2	4,3	2,5	10,3
PFUnA	1,2	3,5	4,8	14,7
PFDoA	2,0	6,8	4,8	13,9

Porovnáním získaných LOD a LOQ hodnot bylo zjištěno, že tyto dva typy derivatizací nelze posoudit vcelku. V obou případech se tyto hodnoty pohybují v jednotkách až desítkách µg/ml. U těkavějších nižších methylesterů PFA byly naměřeny nižší detekční limity a limity stanovitelnosti na rozdíl od nižších isobutylesterů PFA kde se detekční limity a limity stanovitelnosti pohybovaly ve vyšších hodnotách. Obráceně je tomu u méně těkavých vyšších isobutylesterů, u kterých se LOD a LOQ pohybovaly níže než je tomu u více těkavých vyšších methylesterů PFA. Z této tabulky tedy vyplývá, že nižší methylestery jsou více citlivé. Jedním z možných vysvětlení může být souvislost citlivosti s šířkou píku. S postupujícím časem dochází k rozmývání píků.

S přihlédnutím na reprodukovatelnost a koncentrační rozmezí, ve kterých bylo měření provedeno, je ale vhodnější zvolit derivatizaci isobutylesterů PFA po derivatizaci chlormravenčanem isobutylatým.

4.2.3 Srovnání limitů stanovitelnosti a detekce methylesterů a isobutylesterů PFA GC-ECD, GC-MS a HPLC-MS

Porovnáním methylesterů PFA po extrakci methyl(terc)butyl éterem (GC-ECD a GC-MS), isobutylesterů PFA po derivatizaci chlormravenčanem isobutylatým (GC-MS) a PFA bez derivatizační úpravy na HPLC-MS (naměřené výsledky DP 4.3) bylo zjištěno, že stanovení PFA metodami GC-ECD a HPLC-MS je z těchto tří technik, nehledě na způsobu derivatizace, nejcitlivější a určené hodnoty meze detekce a stanovitelnosti se pohybují v desetinách $\mu\text{g/ml}$. Hodnoty určené GC-MS se pohybovaly v jednotkách až desítkách $\mu\text{g/ml}$. Z tohoto porovnání vyplývá, že pro další analýzy PFA je vhodnější dát přednost GC-ECD nebo HPLC-MS před GC-MS.

Tabulka č. 6 – Detekční limity a limity stanovitelnosti isobutylesterů perfluorovaných kyselin GC-ECD, methylesterů a isobutylesterů perfluorovaných kyselin ve splitless módu GC-MS a detekční limity a limity stanovitelnosti PFA bez derivatizační úpravy HPLC-MS.

	<i>GC-ECD</i> <i>Isobutylestery PFA</i>		<i>GC-MS</i> <i>Methylestery PFA</i>		<i>GC-MS</i> <i>Isobutylestery PFA</i>		<i>HPLC-MS</i> <i>Bez derivatizační úpravy</i>	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
PFOA	0,07	0,08	1,4	19,3	8,00	8,01	0,01	0,01

5. Shrnutí a závěr

1. Porovnání methylesterů PFA na GC-ECD a GC-MS

Na GC-MS byly proměřeny kalibrační závislosti všech methylesterů perfluorovaných kyselin ($C_6 - C_{12}$) po extrakci methyl(terc)butyl éterem a určeny meze detekce a stanovitelnosti pro tyto látky. Nejnížší mez detekce byla zjištěna u PFNA 1,7 $\mu\text{g/ml}$ a PFOA 1,4 $\mu\text{g/ml}$, naopak nejvyšší u PFUnA a PFDoA, obojí 4,8 $\mu\text{g/ml}$. Mez stanovitelnosti byla taktéž nejmenší u PFNA 5,9 $\mu\text{g/ml}$, nejvyšší u PFOA 19,3 $\mu\text{g/ml}$. Celkově se hodnoty detekce a stanovitelnosti pohybují v jednotkách až desítkách $\mu\text{g/ml}$. S přihlédnutím k výsledkům získaných během experimentální části DP [13] byla dále porovnána citlivost analytických přístrojů GC-ECD a GC-MS pro analýzu perfluorovaných kyselin. Porovnáním naměřených LOD a LOQ hodnot methylesterů PFA po extrakci methyl(terc)butyl éterem GC-ECD a GC-MS bylo zjištěno, že z pohledu citlivosti, reprodukovatelnosti a stanovených limitů detekce a stanovitelnosti, je jednoznačně lepší pro analýzu PFA po výše uvedené derivatizaci použít metodu GC-ECD. Hodnoty detekce a stanovitelnosti se u GC-ECD pohybovaly v desetínách $\mu\text{g/ml}$ na rozdíl od GC-MS kde tyto hodnoty byly v řádech jednotek až desítek $\mu\text{g/ml}$.

2. Porovnání isobutylesterů a methylesterů, obojí GC-MS

Byla porovnána citlivost dvou derivatizačních metod a určeny LOD a LOQ isobutylesterů PFA po derivatizaci chlormravenčanem isobutylnatým (koncentrační rozmezí 0,8 - 500 $\mu\text{g/ml}$) a methylesterů PFA po extrakci methyl(terc)butyl éterem (koncentrační rozmezí 1 - 10 $\mu\text{g/ml}$), obojí GC-MS. Porovnáním získaných LOD a LOQ hodnot bylo zjištěno, že tyto dva typy derivatizací nelze posoudit vcelku. V obou případech se tyto hodnoty pohybují v jednotkách až desítkách $\mu\text{g/ml}$. U těkavějších nižších methylesterů PFA byly naměřeny nižší detekční limity a limity stanovitelnosti narozdíl od nižších isobutylesterů PFA kde se detekční limity a limity stanovitelnosti pohybovaly ve vyšších hodnotách. Obráceně je tomu u méně těkavých vyšších isobutylesterů, u kterých se LOD a LOQ pohybovaly níže než je tomu u více těkavých vyšších methylesterů PFA. Z této tabulky tedy vyplývá, že nižší methylestery jsou více citlivé. Jedním z možných vysvětlení může být souvislost citlivosti s šířkou píku. S postupujícím časem dochází k rozmývání píků.

S přihlédnutím na reprodukovatelnost a koncentrační rozmezí, ve kterých bylo měření provedeno, je ale vhodnější zvolit derivatizaci isobutylesterů PFA po derivatizaci chlormravenčanem isobutylnatým.

3. Porovnání methylesterů GC-ECD, methylesterů GC-MS, isobutylesterů GC-MS a PFA bez derivatizační úpravy HPLC-MS

S přihlédnutím k výsledkům získaných během experimentální části DP [13] byla porovnána citlivost analytických přístrojů GC-ECD, GC-MS a HPLC-MS pro analýzu perfluorovaných kyselin. Porovnáním naměřených LOD a LOQ hodnot methylesterů PFA po extrakci methyl(terc)butyl éterem (GC-ECD), methylesterů PFA po extrakci methyl(terc)butyl éterem (GC-MS), isobutylesterů PFA po derivatizaci chlormravenčanem isobutylnatým (GC-MS) a PFA bez derivatizační úpravy (HPLC-MS) bylo zjištěno, že stanovení PFA metodami GC-ECD a HPLC-MS je z těchto tří technik, nehledě na způsob derivatizace, nejcitlivější a určené hodnoty meze detekce a stanovitelnosti se pohybují v desetinách $\mu\text{g/ml}$. Hodnoty určené GC-MS a se pohybovaly v jednotkách až desítkách $\mu\text{g/ml}$. Z tohoto porovnání vyplývá, že pro další analýzy PFA je vhodnější dát přednost GC-ECD nebo HPLC-MS před GC-MS. Vzhledem k tomu, že kalibrace byla na GC-MS provedena bez předchozí prekoncentrační úpravy vzorků a tudíž detekční limity byly až stonásobně vyšší než u GC-ECD s prekoncentrací vzorků, je možné že při využití prekoncentrační techniky analýzy PFA na GC-MS dojde k výraznému poklesu detekčních limitů jednotlivých kyselin.

Bylo dokázáno, že využitím stejných derivatizačních technik na přístrojích GC-ECD a GC-MS pro analýzu PFA je vhodnější a citlivější GC-ECD. Z porovnání různých derivatizačních technik na přístrojích GC-ECD, GC-MS a HPLC-MS bez derivatizační úpravy vyplývá, že je taktéž vhodnější dát přednost GC-ECD před GC-MS a HPLC-MS. Do budoucna bychom se i nadále měli věnovat stanovení PFA a pokusit se nalézt ještě více citlivou metodu stanovení těchto látek. Pro úplné srovnání jednotlivých analytických technik je také potřeba doměřit a určit LOD a LOQ hodnoty i pro další methylestery PFA na GC-ECD. Tyto výsledky budou mimo jiné součástí mé disertační práce.

4. Isobutylestery PFA v reálném vzorku vody

LOD a LOQ jednotlivých PFCAs zderivatizovaných na isobutylestery a stanovených na GC-ECD nebyly shledány dostatečně nízkými pro přímou analýzu v reálných vzorcích.

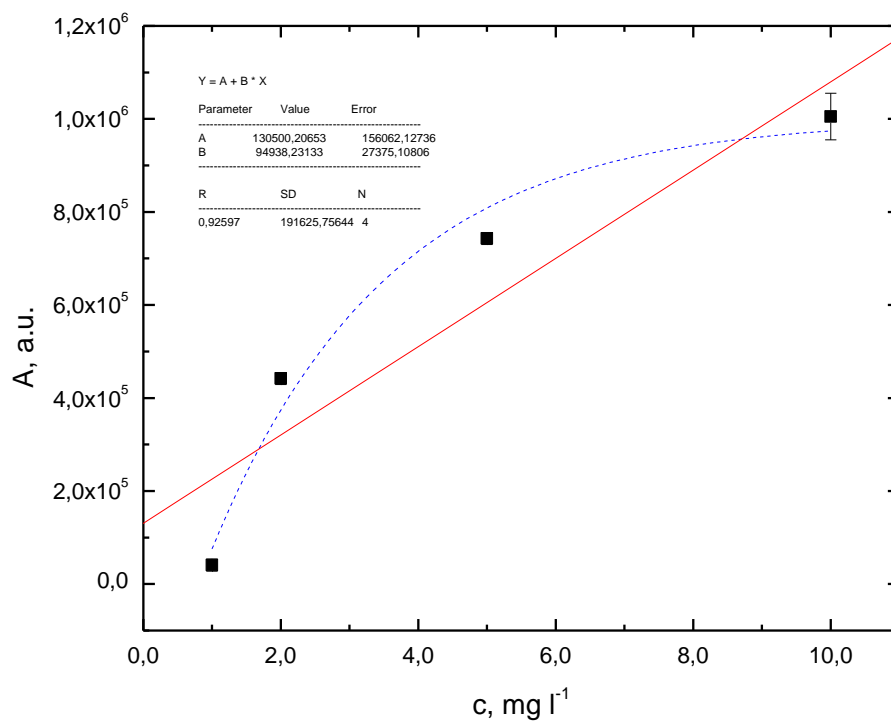
V případě volby vhodného prekoncentračního faktoru (nejvýše 100) se hodnoty LOD a LOQ pohybovaly v jednotkách ppb a odpovídaly tímto koncentracím v reálných vzorcích. Nejnižší naměřené hodnoty LOD a LOQ isobutylesterů PFCAů stanovených GC-ECD se pohybovaly v rozmezí 0,1 – 1,8 $\mu\text{g/ml}$. GC-EI-MS se ukázala méně citlivou metodou, 0,2 – 2,2 $\mu\text{g/ml}$. U HPLC-ESI-MS byly zaznamenány hodnoty LOD a LOQ v rozmezí 1,3 – 3,4 $\mu\text{g/ml}$.

Derivatizační reakce optimalizovaná přidavkem pufrčního roztoku byla o téměř 10% účinnější než derivatizace acetonitrem bez přidavku pufrčního roztoku. LOD a LOQ jednotlivých PFCAů se u GC-ECD pohybovaly v rozmezí 0,2 – 0,7 $\mu\text{g/ml}$. GC-EI-MS se ukázala v tomto případě více citlivou metodou, 0,03 – 0,31 $\mu\text{g/ml}$.

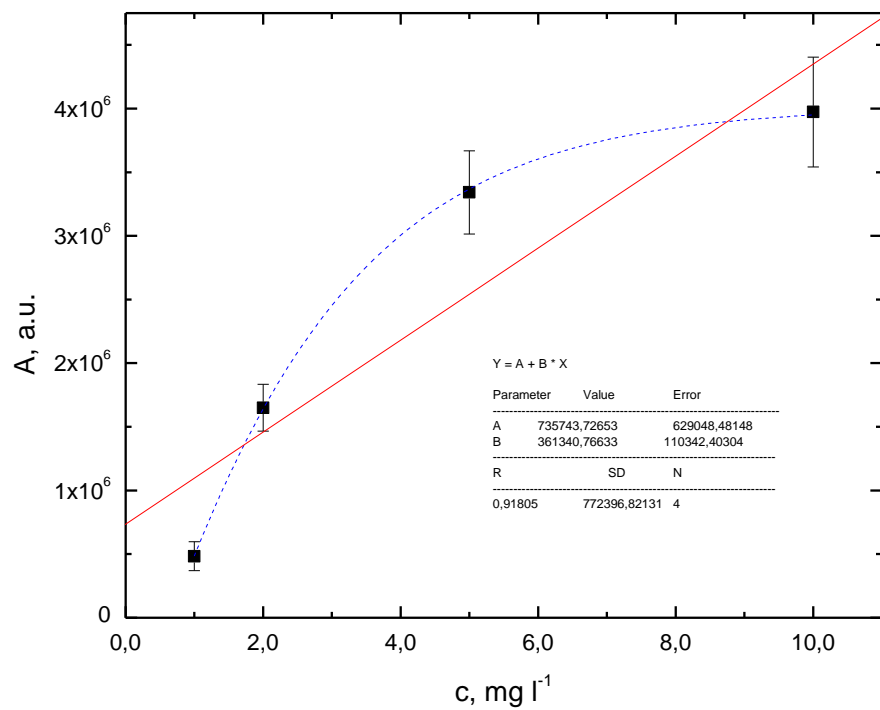
Žádná z těchto kyselin nebyla nalezena v prvních dvou reálných vzorcích odebraných z Vltavy. U třetího reálného vzorku byla potvrzena přítomnost 3,4 ng/ml.

6. Přílohy

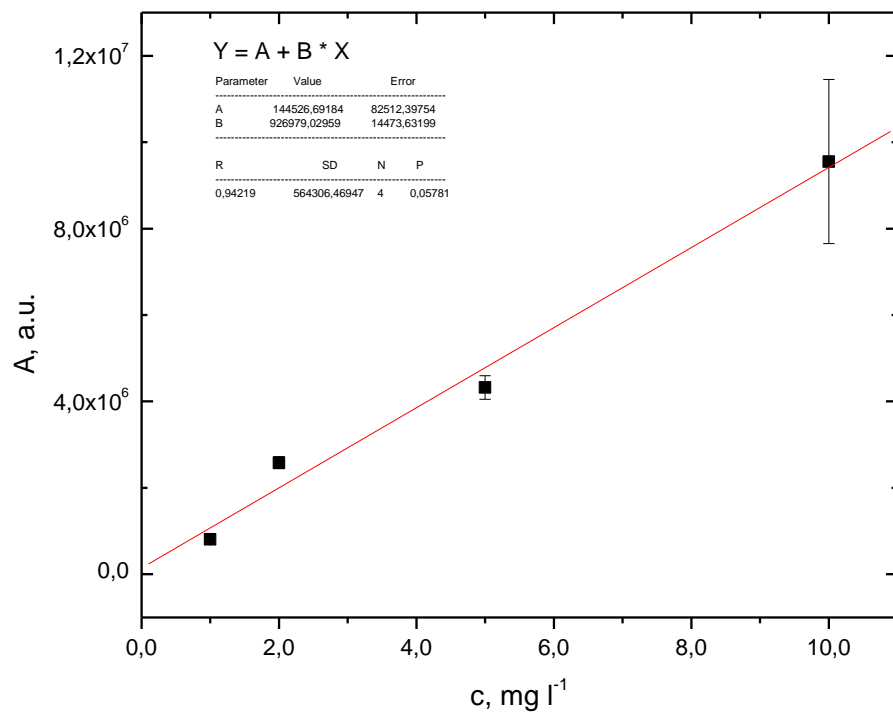
Kalibrační závislosti methylesterů perfluorovaných kyselin, GC-MS.



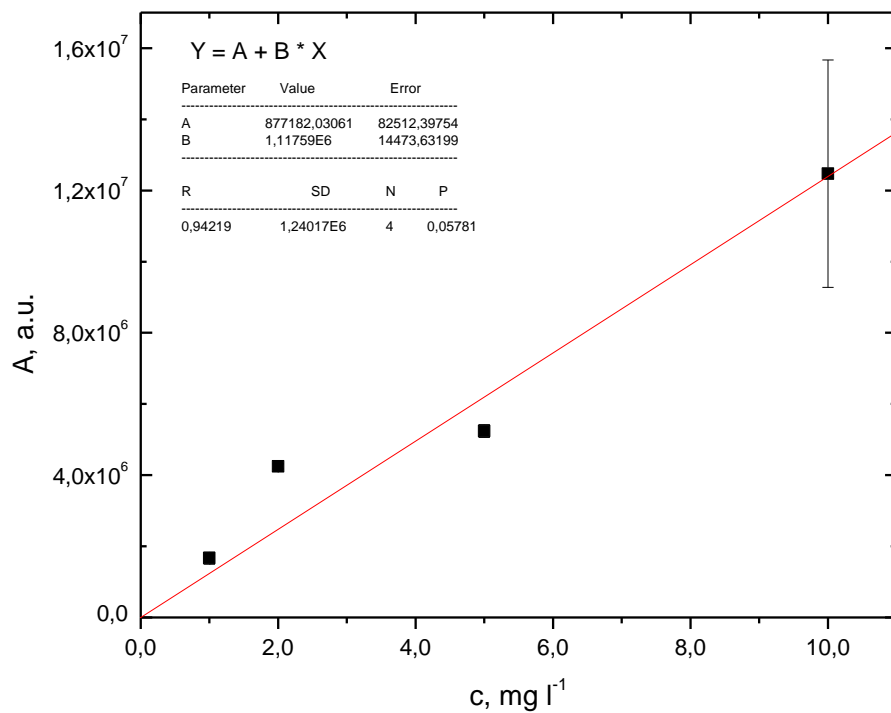
Obrázek č. 3 – Kalibrační závislost metylesteru kyseliny perfluorheptanové ve splitless módu (GC-MS-SIM). Podmínky měření stejné jako u obrázku č. 2.



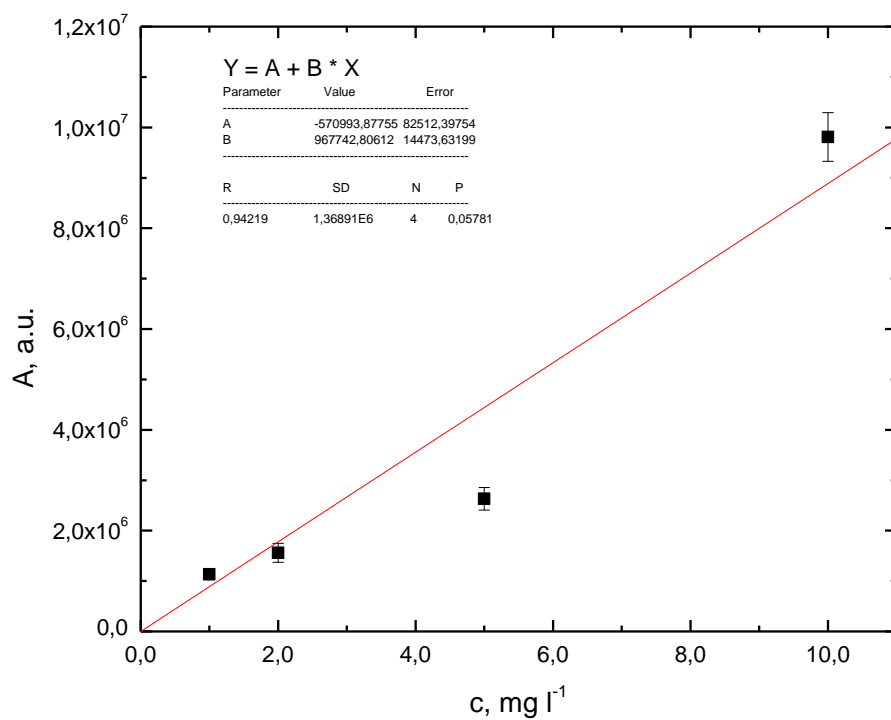
Obrázek č. 4 – Kalibrační závislost metylesteru kyseliny perfluoroktanové ve splitless módu (GC-MS-SIM). Podmínky měření stejné jako u obrázku č. 2.



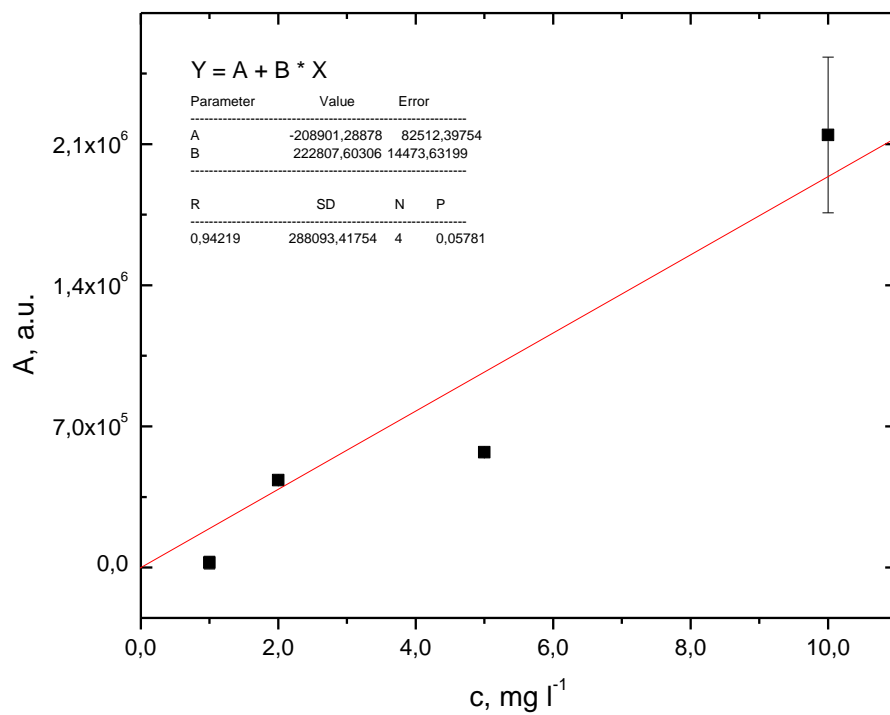
Obrázek č. 5 – Kalibrační závislost metylesteru kyseliny perfluorononanové ve splitless módu (GC-MS-SIM). Podmínky měření stejné jako u obrázku č. 2.



Obrázek č. 6 – Kalibrační závislost metylesteru kyseliny perfluordekanové ve splitless módu (GC-MS-SIM). Podmínky měření stejné jako u obrázku č. 2.



Obrázek č. 7 – Kalibrační závislost metylesteru kyseliny perfluorundekanové ve splitless módu (GC-MS-SIM). Podmínky měření stejné jako u obrázku č. 2.



Obrázek č. 8 – Kalibrační závislost metylesteru kyseliny perfluordodekanové ve splitless módu (GC-MS-SIM). Podmínky měření stejné jako u obrázku č. 2.

7. Seznam zkratek a symbolů

A - plocha píku

a.u. - arbitrární jednotka signálu (Arbitrary unit)

c - molární koncentrace

DP – diplomová práce

ESI – ionizace elektrosprejem

GC-ECD - plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu

GC-MS - plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

HPLC-MS – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí

LOD - limit detekce

LOQ - limit stanovitelnosti

m/z - poměr hmotnosti a náboje

MTBE - methyl(terc)butyl eter

PDMS - polydimethylsiloxan

PFA - perfluorovaná kyselina

PFS - perfluorovaná sloučenina

PFDA - perfluordekanová kyselina

PFDoA - perfluordodekanová kyselina

PFHpA - perfluorheptanová kyselina

PFHxA - perfluorhexanová kyselina

PFNA - perfluornonanová kyselina

PFOA - perfluoroktanová kyselina

PFOS - perfluoroktansulfonát

PFOSA - perfluoroktansulfonamid

PFUnA - perfluorundekanová kyselina

PTFE - polytetrafluorethylen (Teflon)

PVDF - polyvinylidenfluorid

SIM - detekce iontu o zvolené hodnotě *m/z*

SPME - mikroextrakce na tuhé fázi

9. Použitá literatura

- [1] Hájková, K.; Tomaniová, M.; Hajšlová, J.
Perfluorované perzistentní kontaminanty v potravních řetězcích
www.phyto sanitary.org/projekty/2004/vvf-10-04.pdf
- [2] de Voogt P.; Sáez M.
Analytical chemistry of perfluoralkylated substances
Trends in Analytical Chemistry, **25**, 326-342 (2006)
- [3] Moody, C. A.; Field, J. A.
Perfluorinated Surfactants and the Environmental Implications of Their Use in Fire-Fighting Foams
Environ. Sci. Technol., **34**, 3864-3870 (2000)
- [4] Tseng, C. L.; Liu, L. L.; Chen, C. M.; Ding, W. H.
Analysis of Perfluorooctansulfonate and Related Fluorochemicals in Water and Biological Tissue Samples by Liquid Chromatography-ion Trap Mass Spectrometry
J. Chromatogr. A., 1105, 119-126 (2006)
- [5] Martin, J. W.; Muir, D. C. G.; Moody, C. A.; Ellis, D. A.; Kwan, W. C.; Solomon, K. R.; Mabury, S.
Collection of Airborne Fluorinated Organics and Analysis by Gas Chromatography/Chemical Ionization Mass Spectrometry
Anal. Chem., **74**, 584-590 (2002)
- [6] Mawn, M. P.; McKay, R. G.; Ryan, T. W.; Szostek, B.; Powley, C. R.; Buck, R. C.
Determination of Extractable Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in Water, Sweat Simulant, Saliva Simulant, and Methanol from Textile and Carpet Samples by LC-MS-MS
Analyst, **130**, 670-678 (2005)
- [7] Flaherty, J. M.; Connolly, P. D.; Decker, E. R.; Kennedy, S. M.; Ellefson, M. E.; Reagen, W. K.; Szostek B.
Quantitative Determination of PFOA in Serum and Plasma by LC-MS-MS
J. Chromatogr. B, **819**, 329-338 (2005)
- [8] González-Barreiro C.; Martínez-Carballo E.; Sitka A.; Scharf S.; Gans O.
Method optimization for determination of selected perfluorinated alkylated substances in water samples
Anal. Bioanal. Chem., **386**, 2123-2132 (2006)
- [9] Villagrana M.; López de Alda M.; Barceló D.

Environmental analysis of fluorinated alkyl substances by liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry: a review

Anal. Bioanal. Chem., **386**, 953-972 (2006)

- [10] Hashikawa Y.; Kawasaki M.; Waterland R. L.; Hurley M. D.; Ball J. C.; Wallington T. J.; Sulbaek Anderson M. P.; Nielsen O. J.

Gas phase UV and IR absorption spectra of $C_xF_{2x+1}CHO$ ($x = 1-4$)

Journal of Fluorine Chemistry, **125**, 1925-1932 (2004)

- [11] Kaiser M. A.; Larsen B. S., Kao C. C., Buck R. C.

Vapor Pressures of Perfluorooctanoic, -nonanoic, -decanoic, -undecanoic, and -dodecanoic Acids

J. Chem. Eng. Data, **50**, 1841-1843 (2005)

- [12] Kannan K.; Choi J. W.; Iseki N.; Senthilkumar K.; Kim D. H.; Masunaga S.; Giesy J. P.

Concentrations of perfluorinated acids in livers of birds from Japan and Korea

Chemosphere, **49**, 225-231 (2002)

- [13] Maradová D.

Prekoncentrace a stanovení perfluorovaných organických kyselin metodou plynové chromatografie

Diplomová práce, Katedra analytické chemie (2008)

- [14] Veronika Dufková, Radomír Čabala, Doubravka Maradová, Martin Štícha

A fast derivatization procedure for gas chromatographic analysis of perfluorinated organic acids

Journal of Chromatography A, **1216**, 8659-8664 (2009)